doi:10.11659/jjssx.07E021078

·基础研究·

紫丁香苷对前交叉韧带横断诱导的大鼠骨关节炎的影响

乔 磊[1],邸振宇[1],乔 曼[1],吴敬峰[1],及 超[1],杜鑫冲[2] (1.保定市第二医院骨二科,河北 保定 071000;2.河北北方学院附属第一医院骨外科,河北 张家口 075000)

[摘 要] **目的** 探讨紫丁香苷对前交叉韧带横断(ACLT)诱导的骨关节炎大鼠病理损伤、炎症反应及 Wnt/β-catenin 信号通路的影响。**方法** 将 72 只雄性 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、双醋瑞因组、紫丁香苷 25 mg/kg 组、紫丁香苷 50 mg/kg 组和紫丁香苷 100 mg/kg 组,每组 12 只,构建骨关节炎大鼠模型。苏木精—伊红(HE)染色和番红 O-固绿染色观察关节软骨组织病理损伤程度,并进行 Mankin's 评分和国际骨关节炎研究学会(OARSI)半定量评分;ELISA 检测血清和关节灌洗液中 IL-6、TNF-α、IL-1β水平;Western blot 检测 MMP-13、Aggrecan、type Ⅱ collagen、Wnt1、β-catenin 蛋白表达水平。**结果** 与假手术组比较,模型组出现明显骨关节炎关节软骨组织病理损伤,Mankin's 评分、OARSI 评分较高($P<0.05$),血清和关节灌洗液中 IL-6、TNF-α、IL-1β 水平较高($P<0.05$),MMP-13、Wnt1、β-catenin 蛋白表达水平较高($P<0.05$),Aggrecan、type Ⅱ collagen 蛋白表达水平较低($P<0.05$);与模型组比较,双醋瑞因组、紫丁香苷 50 mg/kg 组和紫丁香苷 100 mg/kg 组骨关节炎关节软骨组织病理损伤明显改善,Mankin's 评分、OARSI 评分较低($P<0.05$),血清和关节灌洗液中 IL-6、TNF-α、IL-1β 水平较低($P<0.05$),MMP-13、Wnt1、β-catenin 蛋白表达水平较低($P<0.05$),Aggrecan、type Ⅱ collagen 蛋白表达水平较高($P<0.05$)。**结论** 紫丁香苷可通过抑制炎症反应、细胞外基质的降解及 Wnt/β-catenin 信号通路的活化改善 ACLT 诱导的骨关节炎大鼠关节软骨组织病理损伤。

[关键词] 骨关节炎;紫丁香苷;炎症;Wnt/β-catenin 信号通路;大鼠;前交叉韧带横断

[中图分类号] R684.3 [文献标识码] A [收稿日期] 2021-07-14

Effects of syringin on osteoarthritis induced by anterior cruciate ligament transection in rats

QIAO Lei[1], DI Zhen-yu[1], QIAO Man[1], WU Jing-feng[1], JI Chao[1], DU Xin-chong[2] (1. Second Department of Orthopedics, Baoding Second Hospital, Baoding Hebei 071000, China; 2. Department of Orthopedics Surgery, First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou Hebei 075000, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of syringin on the pathological injury, inflammatory response and Wnt/β-catenin signaling pathway in rats with osteoarthritis induced by anterior cruciate ligament transection (ACLT). **Methods** A total of 72 male SD rats were randomly divided into the sham operation group, the model group, the diacerein group, the syringin 25 mg/kg group, the syringin 50 mg/kg group and the syringin 100 mg/kg group, with 12 rats in each group to construct the osteoarthritis rat model. The degree of pathological injury of articular cartilage tissue was observed by the hematoxylin-eosin (HE) staining and safranin O-fast green staining, and the Mankin's score and Osteoarthritis Research Society International (OARSI) score were performed. The levels of IL-6, TNF-α and IL-1β in serum and joint lavage fluid were detected by ELISA. The protein expression levels of MMP-13, Aggrecan, type Ⅱ collagen, Wnt1 and β-catenin were detected by Western blot. **Results** Compared with the sham operation group, the model group had obvious pathological injury of osteoarthritis articular cartilage tissue, with higher Mankin's score and OARSI score ($P<0.05$), higher levels of IL-6, TNF-α and IL-1β in serum and joint lavage fluid ($P<0.05$), higher protein expression levels of MMP-13, Wnt1 and β-catenin ($P<0.05$), and lower protein expression levels of Aggrecan and type Ⅱ collagen ($P<0.05$). Compared with the model group, the pathological injury of osteoarthritis articular cartilage tissue in the diacerein group, the syringin 50 mg/kg group and the syringin 100 mg/kg group were significantly improved, the Mankin's score and OARSI score were lower ($P<0.05$), the levels of IL-6, TNF-α and IL-1β in serum and joint lavage fluid were lower ($P<0.05$), the protein expression levels of MMP-13, Wnt1 and β-catenin were lower ($P<0.05$), and the protein expression levels of Aggrecan and type Ⅱ collagen were higher ($P<0.05$). **Conclusion** Syringin can improve the pathological injury of articular cartilage tissue in rats with osteoarthritis induced by ACLT by inhibiting inflammatory response, degradation of extracellular matrix and activation of Wnt/β-catenin signaling pathway.

Keywords: osteoarthritis; syringin; inflammation; Wnt/β-catenin signaling pathway; rat; anterior cruciate ligament transection

骨关节炎是一种常见的慢性退行性关节疾病,其发病率呈逐渐上升趋势,特征是关节软骨的退化、丧失以及滑膜炎症,会导致关节僵硬、肿胀、疼痛和活动能力丧失[1]。骨关节炎目前的治疗方式主要为非手术治疗,如运动、营养和药物治疗[2]。目前,用于治疗骨关节炎的大多数药物是非甾体抗炎药,但由于不可避

[基金项目] 河北省 2020 年度医学科学研究课题计划(20200518)

[通信作者] 乔 磊,E-mail:ql13231259908@163.com

免的副作用,非甾体抗炎药的使用受到很大限制[3]。因此,对于骨关节炎有必要进一步探索新的治疗药物以开发更有效的治疗策略。

紫丁香苷是一种提取自五加科和木犀科根茎的酚苷类化合物,具有抗高血糖、抗抑郁、抗氧化和抗炎镇痛等药理活性[4]。多种用于治疗骨关节炎的中药材和中药复方中均含有紫丁香苷[5-7],但紫丁香苷治疗骨关节炎的具体作用机制目前尚不清楚。有研究认为,激活的 Wnt/β-catenin 信号通路参与了骨关节炎的病理过程,其表达水平在 Wnt 信号通路中发挥重要作用,可促使软骨细胞发挥正常功能[8]。本研究通过构建骨关节炎大鼠模型,探讨紫丁香苷对前交叉韧带横断(anterior cruciate ligament transection,ACLT)诱导的骨关节炎病理损伤、炎症反应及 Wnt/β-catenin 信号通路的影响,以期为临床防治骨关节炎提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物、药物及主要试剂

72 只雄性 SD 大鼠购自河北医科大学实验动物公共服务平台,6 周龄,体质量(190 ± 10)g,动物生产许可证号:SCXK(冀)2020-001,饲养于 SPF 级屏障实验室。

紫丁香苷(11539)购自中国食品药品检定研究院;双醋瑞因胶囊(J20150097)购自昆明积大制药股份有限公司;苏木精—伊红(hematoxylin-eosin,HE)染色液(G1120-100)、番红 O-固绿软骨染色液(G1371)购自北京索莱宝科技有限公司;IL-6(ZN2272-PIU)、TNF-α(ARB13318)和 IL-1β(ARB10508)ELISA 试剂盒购自北京百奥莱博科技有限公司;一抗 MMP-13、Aggrecan、type Ⅱ collagen、Wnt1、β-catenin 购自英国 Abcam 公司。

1.2 动物模型建立及分组

参照段荔等[9]的方法制作骨关节炎大鼠模型,将大鼠随机分为假手术组、模型组、双醋瑞因组、紫丁香苷 25 mg/kg 组、紫丁香苷 50 mg/kg 组和紫丁香苷 100 mg/kg组,每组 12 只。所有大鼠麻醉后于右肢踝骨前内侧髌骨旁依次切开皮肤、筋膜和关节囊,除假手术组外其余各组大鼠均暴露并切断前交叉韧带,行抽屉试验检测前交叉韧带是否断裂成功,断裂成功后用生理盐水进行清洗,复位髌骨,依次缝合关节囊、皮肤等。紫丁香苷 25 mg/kg 组、紫丁香苷 50 mg/kg 组、紫丁香苷 100 mg/kg 组每日分别腹腔注射紫丁香苷 25、50、100 mg/kg[10],双醋瑞因组每日以双醋瑞因 54 mg/kg灌胃[11],假手术组和模型组每日以等量生理盐水灌胃,连续 28 d。

1.3 取材

所有大鼠第 28 天灌胃后禁食 12 h,取股动脉血约 3 mL 置于 5 mL 肝素钠抗凝管中,4 ℃保存待用。处死所有大鼠并解剖全膝关节,于髌上囊剪开约 0.5 cm 的切口,用 1 mL 生理盐水分 3 次灌洗关节腔,收集关节灌洗液置于硅化试管中。4 ℃下 4 000 r/min 离心 10 min,取上清,-20 ℃低温冰冻保存待用。将膝关节用 4% 福尔马林固定,5% 甲酸脱钙,1 周后取出,沿关节冠状面切取软骨。

1.4 HE 染色

将各组大鼠膝关节软骨组织置于 4% 多聚甲醛中固定 72 h 后,用 20% 乙二胺四乙酸进行脱钙处理,再将其置于梯度乙醇中脱水,随后在石蜡中包埋。将石蜡包埋的组织切成厚度为 5 μm 的切片,于室温下进行苏木精染色 4 ~ 10 min,随后伊红染色 0.5 ~ 2 min。光学显微镜下观察关节软骨组织病理学变化。采用 Mankin's 法[12]进行关节病理损伤评分,评分标准:0 ~ 1 分为软骨正常,2 ~ 5 分为软骨轻度损伤,6 ~ 9 分为软骨中度损伤,10 ~ 14 分为软骨重度损伤。

1.5 番红 O-固绿染色

将大鼠膝关节软骨组织石蜡切片脱蜡至水,加入新鲜配制的 Weigert 染液染色 5 min,水洗,酸性分化液分化 15 s,随后蒸馏水洗涤 10 min,置入固绿染色液中染色 5 min,用弱酸溶液洗涤 15 s 去除固绿,置入番红 O 染色液内染色 5 min,无水乙醇脱水,二甲苯透明,光学树脂封固。于荧光显微镜下观察。采用国际骨关节炎研究学会(Osteoarthritis Research Society International,OARSI)半定量评分[13]评估骨关节炎严重程度,评分标准:关节软骨结构(0 ~ 8 分)、软骨基质着色(0 ~ 6 分)、软骨细胞分布及数量(0 ~ 3 分)、潮线是否完整(0 ~ 1 分)及有无骨赘形成(0 ~ 3 分),评分越高提示骨关节炎越严重。

1.6 ELISA

取 1.3 方法中收集的各组大鼠股动脉血,12 000 r/min离心 15 min,收集上清液,并取 1.3 方法中关节灌洗液,按照 ELISA 试剂盒说明书检测血清和关节灌洗液中炎症因子 IL-6、IL-1β、TNF-α 水平。

1.7 Western blot

在各组大鼠膝关节软骨组织中加入含蛋白酶抑制剂的细胞裂解液提取总蛋白,BCA 法测定蛋白含量。SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白并转移至 PVDF 膜。4 ℃下加入 MMP-13、Aggrecan、type Ⅱ collagen、Wnt1、β-catenin一抗(1∶1 000)孵育过夜,TBST 清洗后加入 HRP-IgG(1∶10 000),加入电化学发光显色液显色。

以 GAPDH 为内参,采用 ImageJ V1.8.0.112 软件分析各组细胞目的蛋白与 GAPDH 比值。

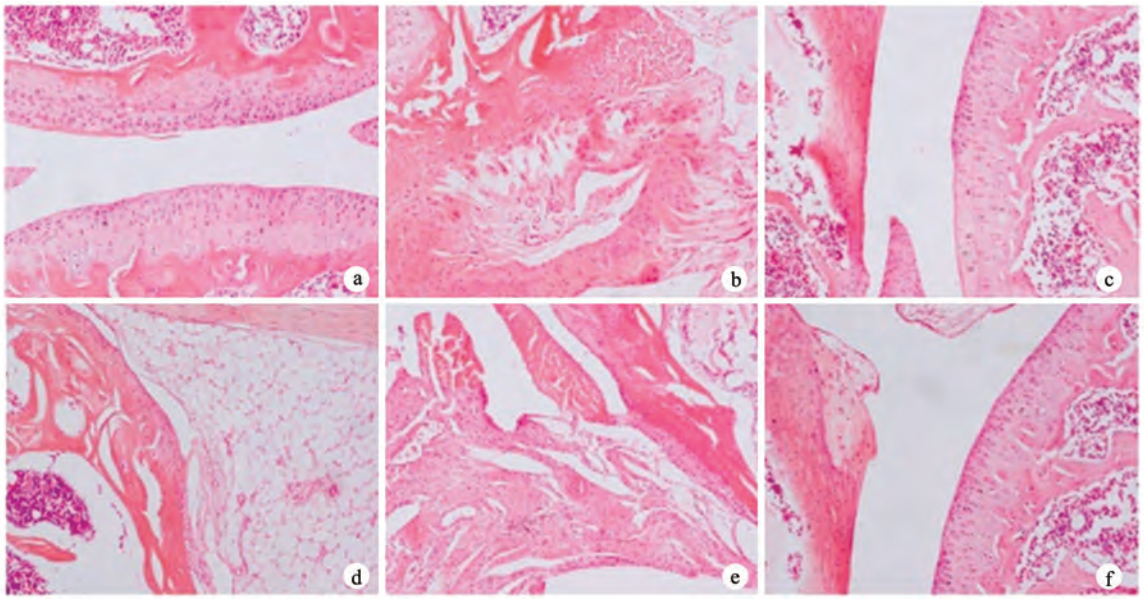
1.8 统计学分析

数据采用 GraphPad Prism 5 软件进行统计分析,计量资料采用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,2 组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

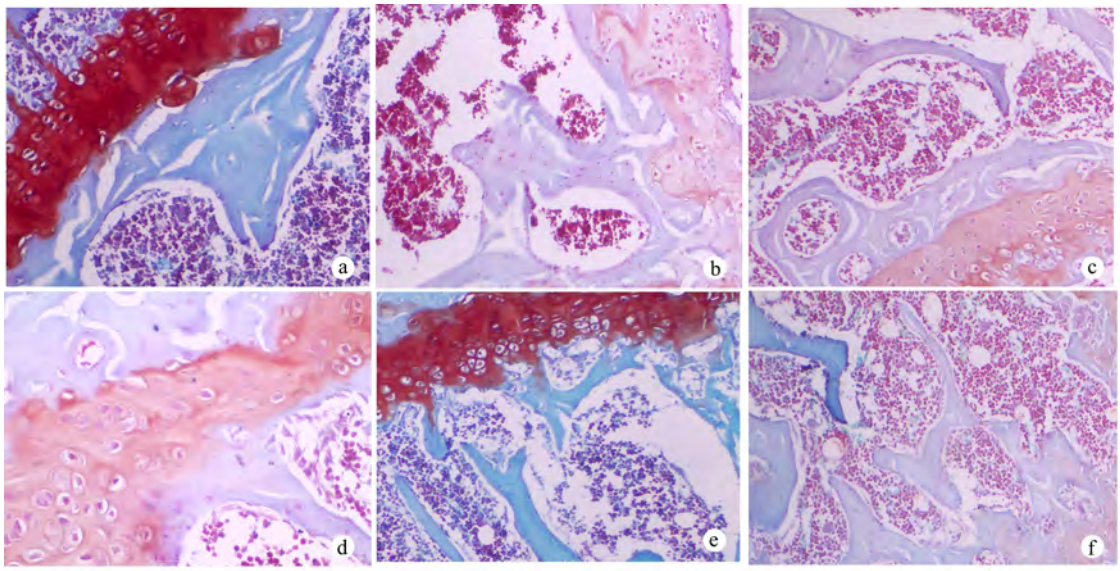
2.1 骨关节炎关节软骨组织病理损伤程度

假手术组膝关节软骨组织相对保持完整,可见保存完好的光滑软骨表面和软骨细胞,软骨组织正常排列,结构层次清晰,潮线完整。模型组和紫丁香苷 25 mg/kg 组出现严重和广泛的软骨破坏,关节软骨层状结构消失,软骨表面细胞破损严重且排列紊乱,大量炎性细胞浸润,毛细血管增生,4 层结构不易分辨,潮线不完整,出现明显的骨关节炎关节软骨组织病理损伤。双醋瑞因组、紫丁香苷 50 mg/kg 组和紫丁香苷 100 mg/kg 组病理损伤程度明显减轻,炎性细胞浸润、纤维组织增生、排列不规则、毛细血管增生均有不同程度的改善,番红 O-固绿染色呈重度减退,潮线断续或多重潮线,可分辨 4 层结构,软骨细胞增殖,软骨已有不同程度的恢复,见图 1、2。



a:假手术组;b:模型组;c:双醋瑞因组;d:紫丁香苷 25 mg/kg 组;e:紫丁香苷 50 mg/kg 组;f:紫丁香苷 100 mg/kg 组

图 1 紫丁香苷对骨关节炎关节软骨组织病理损伤程度的影响(HE 染色,×200)



a:假手术组;b:模型组;c:双醋瑞因组;d:紫丁香苷 25 mg/kg 组;e:紫丁香苷 50 mg/kg 组;f:紫丁香苷 100 mg/kg 组

图 2 紫丁香苷对骨关节炎大鼠模型膝关节软骨的影响(番红 O-固绿染色,×200)

2.2 骨关节炎模型大鼠 Mankin's 评分和 OARSI 评分

与假手术组比较,模型组 Mankin's 评分、OARSI 评分均较高,差异有统计学意义($P<0.05$)。与模型组比较,紫丁香苷 25 mg/kg 组 Mankin's 评分、OARSI 评分差异无统计学意义($P>0.05$)。与模型组比较,双醋瑞因组、紫丁香苷 50 mg/kg 组和紫丁香苷 100 mg/kg 组 Mankin's 评分、OARSI 评分均较低,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 骨关节炎模型大鼠 Mankin's 评分和 OARSI 评分($\bar{x}\pm s$, $n=12$,分)

组别	Mankin's 评分	OARSI 评分
假手术组	2.15±0.28	0.33±0.18
模型组	6.41±0.25*	8.94±0.49*
双醋瑞因组	4.61±0.30#	5.34±0.54#
紫丁香苷 25 mg/kg 组	5.88±0.26	7.24±0.69
紫丁香苷 50 mg/kg 组	4.43±0.39#	6.65±0.69#
紫丁香苷 100 mg/kg 组	3.76±0.27#	4.87±0.41#

*:与假手术组比较,$P<0.05$;#:与模型组比较,$P<0.05$

2.3 骨关节炎模型大鼠血清和关节灌洗液中 IL-6、TNF-α、IL-1β 水平

与假手术组比较,模型组血清和关节灌洗液中 IL-6、TNF-α、IL-1β 水平均较高,差异有统计学意义($P<0.05$)。与模型组比较,紫丁香苷 25 mg/kg 组血清和关节灌洗液中 IL-6、TNF-α、IL-1β 水平差异无统计学意义($P>0.05$);与模型组比较,双醋瑞因组、紫丁香苷 50 mg/kg 组和紫丁香苷 100 mg/kg 组血清和关节灌洗液中 IL-6、TNF-α、IL-1β 水平均较低,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

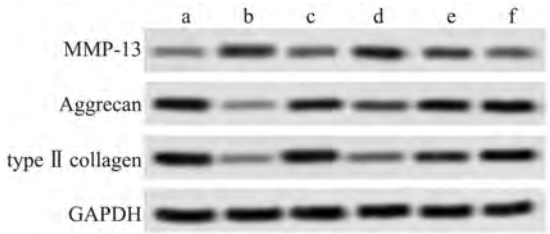
2.4 骨关节炎模型大鼠 MMP-13、Aggrecan、type Ⅱ collagen、Wnt1、β-catenin 蛋白表达水平

与假手术组比较,模型组 MMP-13、Wnt1、β-catenin 蛋白表达水平均较高,Aggrecan、type Ⅱ collagen 蛋白表达水平均较低,差异有统计学意义($P<0.05$)。与模型组比较,紫丁香苷 25 mg/kg 组 MMP-13、Aggrecan、type Ⅱ collagen、Wnt1、β-catenin 蛋白表达水平差异无统计学意义($P>0.05$);与模型组比较,双醋瑞因组、紫丁香苷50 mg/kg组和紫丁香苷 100 mg/kg 组MMP-13、Wnt1、β-catenin蛋白表达水平均较低,Aggrecan、type Ⅱ collagen 蛋白表达水平均较高,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 3、图 4、表 3。

表 2 骨关节炎模型大鼠血清和关节灌洗液中 IL-6、TNF-α、IL-1β 水平($\bar{x}\pm s$, $n=12$, pg/mL)

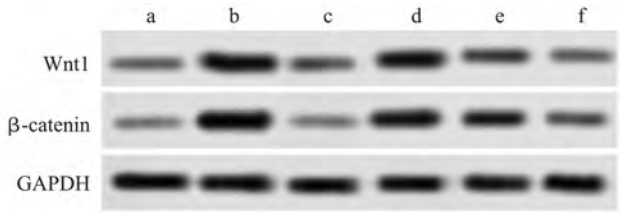
组别	血清			关节灌洗液		
	IL-6	TNF-α	IL-1β	IL-6	TNF-α	IL-1β
假手术组	26.98±4.62	195.12±15.40	71.44±4.59	119.99±16.90	40.56±7.53	33.09±1.58
模型组	79.33±9.06*	361.88±23.67*	164.41±13.16*	272.39±31.74*	128.91±8.21*	89.87±2.81*
双醋瑞因组	38.35±5.37#	205.73±13.91#	107.57±5.59#	134.02±21.74#	88.15±5.26#	40.45±2.23#
紫丁香苷 25 mg/kg 组	54.47±5.11	282.65±20.62	152.34±12.81	187.37±19.04	120.33±8.82	61.24±2.71
紫丁香苷 50 mg/kg 组	45.53±4.90#	248.39±17.21#	127.39±10.39#	163.97±18.19#	102.37±6.50#	54.38±1.67#
紫丁香苷 100 mg/kg 组	38.19±3.62#	213.65±15.70#	115.87±6.99#	142.02±13.82#	95.02±7.71#	43.42±2.01#

*:与假手术组比较,$P<0.05$;#:与模型组比较,$P<0.05$



a:假手术组;b:模型组;c:双醋瑞因组;d:紫丁香苷 25 mg/kg 组;e:紫丁香苷 50 mg/kg 组;f:紫丁香苷 100 mg/kg 组

图 3 Western blot 检测骨关节炎模型大鼠 MMP-13、Aggrecan、type Ⅱ collagen 蛋白表达水平



a:假手术组;b:模型组;c:双醋瑞因组;d:紫丁香苷 25 mg/kg 组;e:紫丁香苷 50 mg/kg 组;f:紫丁香苷 100 mg/kg 组

图 4 Western blot 检测骨关节炎模型大鼠 Wnt1、β-catenin 蛋白表达水平

表 3 骨关节炎模型大鼠 MMP-13、Aggrecan、type Ⅱ collagen、Wnt1、β-catenin 蛋白表达水平($\bar{x}\pm s$, $n=12$)

组别	MMP-13	Aggrecan	type Ⅱ collagen	Wnt1	β-catenin
假手术组	0.02±0.01	0.15±0.03	0.23±0.04	0.06±0.01	0.05±0.01
模型组	0.19±0.05*	0.01±0.01*	0.02±0.01*	0.92±0.05*	0.73±0.04*
双醋瑞因组	0.05±0.01#	0.13±0.05#	0.20±0.01#	0.24±0.02#	0.20±0.02#
紫丁香苷 25 mg/kg 组	0.17±0.04	0.02±0.01	0.04±0.01	0.56±0.04	0.34±0.03
紫丁香苷 50 mg/kg 组	0.14±0.02#	0.07±0.03#	0.10±0.03#	0.41±0.03#	0.27±0.03#
紫丁香苷 100 mg/kg 组	0.07±0.01#	0.16±0.05#	0.18±0.05#	0.19±0.02#	0.16±0.02#

*:与假手术组比较,$P<0.05$;#:与模型组比较,$P<0.05$

3 讨论

骨关节炎是临床常见病症,虽然手术治疗发展迅速,但药物治疗仍较常用,然而目前的药物仍存在一定的副作用。骨关节炎目前尚无可用的预防或治疗性生物学干预措施,相关的药物制剂还处于探索阶段。目前广泛认为关节软骨的退变是骨关节炎进展的关键[14],Mankin's 评分和 OARSI 评分可用于评价大鼠软骨组织结构的退变程度。本研究 HE 染色和番红 O-固绿染色结果显示,紫丁香苷可改善骨关节炎模型大鼠软骨组织损伤,并降低大鼠 Mankin's 评分、OARSI 评分,提示紫丁香苷对软骨损伤具有保护作用。

骨关节炎是滑膜关节常见的慢性炎症性疾病,炎症反应会促进滑膜中促炎细胞因子 IL-1β、IL-6 和 TNF-α 的过度表达,诱导新生血管、炎症以及基质降解酶的产生,导致软骨降解[15]。Wang 等[16]研究发现熊果酸可通过逆转炎症因子 IL-1β,IL-6、TNF-α 等的上调缓解 ACLT 诱导的大鼠骨关节炎症状。Ma 等[17]研究发现葛根素可通过抑制 ACLT 大鼠软骨组织中 IL-1β、IL-6 和 TNF-α 等炎症因子的产生,从而抑制骨关节炎的发展。本研究 ELISA 实验表明,骨关节炎模型大鼠经紫丁香苷作用后,血清和关节灌洗液中 TNF-α、IL-6、IL-1β 水平均降低,提示紫丁香苷可通过抑制炎症因子的释放延缓骨关节炎的进展,对关节软骨组织起保护作用。

有研究表明,软骨细胞外基质含量的高低对骨关节炎的病情变化有明显的影响[18]。MMP-13 是目前最有效的Ⅱ型胶原纤维降解酶,能够降解软骨基质中的 type Ⅱ collagen,在骨关节炎中明显高表达[19]。关节软骨由高分化软骨和细胞外基质组成,而细胞外基质主要由 Aggrecan 和 type Ⅱ collagen 组成,二者共同维持软骨的生物力学性能[20]。Aggrecan 和 type Ⅱ collagen 的减少是细胞外基质降解的主要原因,会导致软骨骨架结构受到破坏。本研究 Western blot 实验表明,骨关节炎模型大鼠经紫丁香苷作用后,MMP-13 蛋白表达水平降低,Aggrecan、type Ⅱ collagen 蛋白表达水平升高,提示紫丁香苷可通过抑制细胞外基质的降解改善骨关节炎。

Wnt/β-catenin 信号通路通过调节成骨细胞和软骨细胞分化产生蛋白酶而参与骨关节炎的发病过程,其在骨关节炎发病过程中呈过度激活状态[21]。中医药干预 Wnt/β-catenin 信号通路可通过下调 Wnt、β-catenin蛋白表达促进关节软骨细胞增殖或抑制相关基因的表达,从而起到治疗骨关节炎的作用[22]。Zhong 等[23]研究发现青蒿素可通过抑制 Wnt/β-catenin 信号通路减轻IL-1β介导的炎症反应并延缓骨关节炎进展。Ding 等[24]研究发现大黄素干预可通过抑制 Wnt/β-catenin 信号通路来防止骨关节炎模型兔软骨退变并延缓疾病进展。本研究 Western blot 实验表明,骨关节炎模型大鼠经紫丁香苷作用后,Wnt1、β-catenin 蛋白表达水平降低,提示紫丁香苷可通过抑制 Wnt/β-catenin信号通路的活化对骨关节炎大鼠关节软骨组织起保护作用。

综上所述,紫丁香苷可通过抑制炎症反应、细胞外基质的降解及 Wnt/β-catenin 信号通路的活化改善 ACLT 诱导的骨关节炎大鼠软骨组织病理损伤,对骨关节炎大鼠关节软骨组织起保护作用。

[参考文献]

[1] 张卫超,姜 磐,崔卫国,等. 玻璃酸钠腔内注射联合关节镜清理术治疗退行性膝骨关节炎的效果及安全性观察[J]. 临床误诊误治,2021,34(2):34-38. doi:10.3969/j.issn.1002-3429.2021.02.009.

[2] Castrogiovanni P,Di Rosa M,Ravalli S,et al. Moderate physical activity as a prevention method for knee osteoarthritis and the role of synoviocytes as biological key[J]. Int J Mol Sci,2019,20(3):511. doi:10.3390/ijms20030511.

[3] Zhou F,Mei J,Han X,et al. Kinsenoside attenuates osteoarthritis by repolarizing macrophages through inactivating NF-κB/MAPK signaling and protecting chondrocytes[J]. Acta Pharm Sin B,2019,9(5):973-985. doi:10.1016/j.apsb.2019.01.015.

[4] 秦淑红,朱爱华. 紫丁香苷抗肿瘤活性筛选及作用机制研究[J]. 安徽农业科学,2018,46(14):107-108. doi:10.3969/j.issn.0517-6611.2018.14.030.

[5] 张 强,赵同德,杨甜甜,等. 针药联合治疗膝骨关节炎临床观察[J]. 针灸临床杂志,2016,32(3):37-39.

[6] 文德鉴,涂 星,胡泽华,等. 土家族常用基质调敷接骨膏粉末体外经皮吸收药动学研究[J]. 中国中医药信息杂志,2017,24(2):79-83. doi:10.3969/j.issn.1005-5304.2017.02.020.

[7] 汪小莉,刘 晓,夏春燕,等. 防己黄芪汤药理作用及各单味药化学成分研究进展[J]. 中草药,2016,47(19):3527-3534. doi:10.7501/j.issn.0253-2670.2016.19.028.

[8] 申海艳,周 静,肖丽娜,等. 基于 Wnt/β-catenin 信号探讨苗药五藤膏对膝骨关节炎模型兔软骨组织中 β-catenin 蛋白及 MMP-13、c-myc mRNA 表达的影响[J]. 中国老年学杂志,2021,41(15):3271-3276. doi:10.3969/j.issn.1005-9202.2021.15.036.

[9] 段 荔,段姮妃,李翠葳,等. 益气养血方对膝骨关节炎模型大鼠软骨 BMP-2、BMP-4 表达的影响[J]. 辽宁中医杂志,2021,48(3):195-198. doi:10.13192/j.issn.1000-1719.2021.03.054.

[10] 姜月红,王燕颖. 紫丁香苷对大鼠肝缺血再灌注损伤保护作用的初步研究[J]. 中国实验诊断学,2016,20(3):359-361.

[11] 胡芯源,曹 珊,陈文明,等. 连翘苷元通过抑制 TLR4 介导的NF-κB信号通路减轻大鼠骨关节炎软组织损伤和基质降解[J]. 免疫学杂志,2021,37(2):115-121. doi:10.13431/j.cnki.immunol.j.20210017.

[12] Mankin HJ,Dorfman H,Lippiello L,et al. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteo-arthritic human hips. Ⅱ. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data[J]. J Bone Joint Surg Am,1971,53(3):523-537.

[13] Waldstein W,Perino G,Gilbert SL,et al. OARSI osteoarthritis cartilage histopathology assessment system: a biomechanical evaluation in the human knee[J]. J Orthop Res,2016,34(1):135-140. doi:10.1002/jor.23010.

doi:10.11659/jjssx.07E021142

·基础研究·

基于硬组织切片染色的颈椎钩椎关节的解剖研究

李梓瑜[1],刘宇航[1],史 君[2],曲星月[1],袁宏伟[3],李 琨[4,5],陈 杰[4],李筱贺[4],王海燕[4],和雨洁[4],李志军[4,5],张少杰[4,5],王 星[4,5] (1.内蒙古医科大学研究生院,内蒙古 呼和浩特 010110;2.内蒙古医科大学基础医学院生理学教研室,内蒙古 呼和浩特 010110;3.内蒙古医科大学基础医学院病理学教研室,内蒙古 呼和浩特 010110;4.内蒙古医科大学基础医学院解剖学教研室,内蒙古 呼和浩特 010110;5.内蒙古医科大学数字医学中心,内蒙古 呼和浩特 010110)

[摘 要] **目的** 利用硬组织切片技术、苏木精—伊红染色及甲苯胺蓝染色方法对成人钩椎关节的组织形态及各层结构进行观察,并对钩椎关节的解剖结构进行探讨。**方法** 选取成年男性全颈椎标本,截取 C_2 ~ C_6 钩椎关节进行福尔马林固定,脱水,于光固化机中包埋聚合。利用硬组织切片机对标本进行切片处理,磨片机对标本进行磨片处理,并使用苏木精—伊红及甲苯胺蓝进行染色。观察染色后钩椎关节组织形态及结构特点。**结果** 苏木精—伊红染色的钩椎关节骨切片可清晰见到椎体及椎间盘被钙盐沉积分开,上下椎体切面可见粉染骨小梁,骨小梁间可见骨髓组织。甲苯胺蓝染色的钩椎关节骨切片可见成骨细胞和破骨细胞的各种骨组织形态,椎体切面可见体积、宽度、分布均正常的蓝色骨小梁。**结论** 硬组织切片技术可以较完整保留钩椎关节的固有组织形态,经苏木精—伊红染色、甲苯胺蓝染色均可清晰观察到钩椎关节各层结构及形态特征。

[关键词] 钩椎关节;硬组织切片;苏木精—伊红染色;甲苯胺蓝染色;解剖结构

[中图分类号] R323 [文献标识码] A [收稿日期] 2021-07-28

Anatomical study of cervical Luschka joint based on hard tissue section staining

LI Zi-yu[1], LIU Yu-hang[1], SHI Jun[2], QU Xing-yue[1], YUAN Hong-wei[3], LI Kun[4,5], CHEN Jie[4], LI Xiao-he[4], WANG Hai-yan[4], HE Yu-jie[4], LI Zhi-jun[4,5], ZHANG Shao-jie[4,5], WANG Xing[4,5] (1. Graduate School of Inner Mongolia Medical University, Huhhot Inner Mongolia 010110, China; 2. Department of Physiology of Basic Medical School, Inner Mongolia Medical University, Huhhot Inner Mongolia 010110, China; 3. Department of Pathology of Basic Medical School, Inner Mongolia Medical University, Huhhot Inner Mongolia 010110, China; 4. Department of Anatomy of Basic Medical School, Inner Mongolia Medical University, Huhhot Inner Mongolia 010110, China; 5. Center of Digital Medicine, Inner Mongolia Medical University, Huhhot Inner Mongolia 010110, China)

[基金项目] 国家自然科学基金(81860382,81860383,81560348);内蒙古自然科学基金(2020MS03061,2019MS08017,2019MS08139);内蒙古自治区科技发展计划项目(2019GG158);内蒙古自治区卫生健康委医疗卫生科技计划项目(202201217);内蒙古自治区高等学校青年科技英才项目(NJYT22009);内蒙古医科大学科研重点项目(YKD2021ZD011)

[通信作者] 王 星,E-mail:wangxing197911@163.com;张少杰,E-mail:24395982@qq.com

[14] 王云飞,骞立刚,焦建宝,等.羊耳菊水提物减轻免疫紊乱和软骨退变对 ACLT 诱导的骨关节炎大鼠保护作用[J].医学分子生物学杂志,2021,18(3):211 -216. doi:10.3870/j.issn.1672 -8009.2021.03.009.

[15] 张建业,张卫华,韩 俊,等.丹参酮ⅡA 抑制软骨细胞炎症、软骨基质降解的机制及对大鼠骨关节炎的影响[J].解放军医药杂志,2021,33(3):10 -16. doi:10.3969/j.issn.2095 -140X.2021.03.003.

[16] Wang C,Gao Y,Zhang Z,et al. Ursolic acid protects chondrocytes,exhibits anti-inflammatory properties via regulation of the NF-κB/NLRP3 inflammasome pathway and ameliorates osteoarthritis[J]. Biomed Pharmacother,2020,130:110568. doi:10.1016/j.biopha.2020.110568.

[17] Ma TW,Wen YJ,Song XP,et al. Puerarin inhibits the development of osteoarthritis through antiinflammatory and antimatrix-degrading pathways in osteoarthritis-induced rat model[J]. Phytother Res,2020,35(5):2579 -2593. doi:10.1002/ptr.6988.

[18] Zhang B,Zhou H,Cheng Q,et al. Low-frequency low energy ultrasound combined with microbubbles induces distinct apoptosis of A7r5 cells[J]. Mol Med Rep,2014,10(6):3282 -3288. doi:10.3892/mmr.2014.2654.

[19] 瞿杭波,李庆庆,蒋增辉,等.姜黄素对骨关节炎软骨细胞增殖及分泌 MMP-13、IL-6 的影响[J].中国现代医生,2020,58(26):38 -40.

[20] Sentchordi-Montané L,Aza-Carmona M,Benito-Sanz S,et al. Heterozygous aggrecan variants are associated with short stature and brachydactyly:description of 16 probands and a review of the literature[J]. Clin Endocrinol (Oxf),2018,88(6):820 -829. doi:10.1111/cen.13581.

[21] Yuasa T,OtanI T,Koike T,et al. Wnt/beta-catenin signaling stimulates matrix catabolic genes and activity in articular chondrocytes:its possible role in joint degeneration[J]. Lab Invest,2008,88(3):264 -274. doi:10.1038/labinvest.3700747.

[22] 蔡 鑫,唐 芳,马武开,等.中医药调控 Wnt/β-catenin 信号治疗膝骨关节炎的研究进展[J].贵州中医药大学学报,2020,42(6):81 -85. doi:10.16588/j.cnki.issn2096 -8426.2020.06.018.

[23] Zhong G,Liang R,Yao J,et al. Artemisinin ameliorates osteoarthritis by inhibiting the Wnt/β-catenin signaling pathway[J]. Cell Physiol Biochem,2018,51(6):2575 -2590. doi:10.1159/000495926.

[24] Ding QH,Ye CY,Chen EM,et al. Emodin ameliorates cartilage degradation in osteoarthritis by inhibiting NF-κB and Wnt/β-catenin signaling in-vitro and in-vivo[J]. Int Immunopharmacol,2018,61:222 -230. doi:10.1016/j.intimp.2018.05.026.

(编辑:贺绍梅)